油脂类型对肉鸡不同组织甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因相对表达量的影响

陶亚飞　陈　青　徐媛媛　石秀文　陈　文　黄艳群*

（河南农业大学饲料营养河南省工程实验室，河南农业大学国家家养动物种质资源平台，郑州 450002）

摘　要：本试验旨在探究油脂类型对肉鸡不同组织甘油醛-3-磷酸脱氢酶（*GAPDH*）基因相对表达量的影响。试验选用 240 只 1 日龄的科宝肉鸡母雏，随机分为 8 个组（4 个单一油脂组，分别在饲粮中添加 5.00%亚麻油、玉米油、芝麻油和猪油；4 个混合油脂组，分别在饲粮中添加 2.50%猪油+2.50%玉米油、2.50%猪油+2.50%芝麻油、2.50%亚麻油+2.50%玉米油和 2.50%亚麻油+2.50%芝麻油），每组 6 个重复，每个重复 5 只鸡。试验期 42 d。结果表明：1)组织及油脂类型与组织的交互作用对 42 日龄肉鸡组织 *GAPDH* 基因的相对表达量影响显著（$P<0.05$），油脂类型对 42 日龄肉鸡组织 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响不显著（$P>0.05$）。42 日龄肉鸡胸肌 *GAPDH* 基因的相对表达量显著高于肝脏和腹脂（$P<0.05$），是肝脏的 37.50～89.50 倍，是腹脂的 129.54～190.64 倍，而的 *GAPDH* 基因的相对表达量在肝脏与腹脂之间差异不显著（$P>0.05$）；玉米油组胸肌中 *GAPDH* 基因的相对表达量显著高于猪油组（$P<0.05$）。2)21 日龄肉鸡肝脏 *GAPDH* 基因的相对表达量显著或极显著高于 42 日龄（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）。3)油脂组合及油脂组合与日龄的交互作用对肉鸡肝脏 *GAPDH* 基因相对表达量的影响均不显著（$P>0.05$），但日龄对肉鸡肝脏 *GAPDH* 基因相对表达量的影响显著（$P<0.05$）。由此可见，油脂类型对肉鸡 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响呈现组织间的

收稿日期：2016-11-17
基金项目：国家自然科学基金（31272434）
作者简介：陶亚飞（1990—），男，河南商丘人，硕士研究生，动物遗传育种与繁殖专业。E-mail: 15515517571@163.com
*通信作者：黄艳群，副教授，硕士生导师，E-mail: hyanqun@aliyun.com

差异，玉米油可提高胸肌 *GAPDH* 基因的相对表达量。42 日龄肉鸡胸肌 *GAPDH* 基因的相对表达量显著高于肝脏和腹脂，21 日龄肉鸡肝脏 *GAPDH* 基因的相对表达量显著高于 42 日龄。

关键词：肉鸡；油脂；GAPDH；基因表达

中图分类号：S831

甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）是动物能量代谢途径的关键代谢酶，由 4 个分子质量为 30~40 ku 的亚基组成，分子质量为 146 ku[1]。最初对 GAPDH 的研究主要集中在其在糖酵解过程中的作用，GAPDH 作为糖酵解过程中的关键酶之一[2-4]，在细胞膜、细胞质、细胞核上均有分布。随着对 GAPDH 研究的深入，发现该酶还具有一些与糖酵解功能无关的生物活性，例如，在生物膜上，GAPDH 参与膜运动、促进膜融合等[5]；在细胞质中，GAPDH 有保护细胞、催化微管聚合等功能[6]；在细胞核内，GAPDH 参与 tRNA 出核、DNA 修复[7]；在一些神经性疾病上，GAPDH 参与细胞凋亡以及与年龄相关的神经性疾病[8]；研究表明，GAPDH 还具有磷酸转移酶/激酶的活性[9]。*GAPDH* 基因具有高度保守的种属序列并且广泛存在于众多生物体中，几乎在所有组织中都高水平表达。在分子生物学研究方法上，*GAPDH* 基因常被作为管家基因，广泛用作 RNA 水平和蛋白质水平下基因表达研究的标准化内参。

玉米油和芝麻油含有较高的亚油酸和油酸，是 n-6 脂肪酸的代表[10-11]；亚麻籽油的 n-6/n-3 多不饱和脂肪酸（PUFA）的比值(约为 0.34:1.00)远远低于其他油脂，是 n-3 脂肪酸的代表[12-13]；猪油是富含单不饱和脂肪酸的动物油，其油酸含量高达 48.70%。已有研究表明，在肉鸡饲粮中适量添加油脂可以满足肉鸡快速生长对能量的需要，改善饲粮口感和提高饲粮利用率[14]。油脂类型会影响动物脂类代谢及脂肪酸合成酶（*FAS*）mRNA 的表达[15]。但尚未见油脂类型对肉鸡 *GAPDH* 基因表达效应的系统报道。本文主要研究单一油脂及其组合对不同日龄肉鸡在不同组织中 *GAPDH* 基因表达量的影响。

1　材料与方法

1.1 试验动物及试验设计

本试验选用 240 只 1 日龄科宝肉鸡母雏，随机分为 8 组，每组 6 个重复，每个重复 5 只鸡。试验鸡采用笼养，每笼 5 只鸡，自由采食和饮水，免疫程序按常规进行。饲粮参照 NRC(1994)肉鸡的营养需要配制，分为 1～3 周龄和 4～6 周龄 2 个阶段。试验期 42 d。4 个单一油脂组分别在饲粮中添加 5%的亚麻油、玉米油、芝麻油和猪油，其饲粮组成及营养水平见表 1；4 个混合油脂组包含 2 个猪油混合组（饲粮中添加 2.5%猪油＋2.5%玉米油、2.5%猪油＋2.5%芝麻油）和 2 个植物油混合组（饲粮中添加 2.5%亚麻油＋2.5%玉米油、2.5%亚麻油＋2.5%芝麻油），其饲粮组成及营养水平见表 2。

表 1 单一油脂组饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of diets of single oil groups (air-dry basis) %

项目 Items	1～3 周龄 1 to 3 weeks of age		4～6 周龄 4 to 6 weeks of age	
	植物油组 Vegetable oil group	猪油组 Lard oil group	植物油组 Vegetable oil group	猪油组 Lard oil group
原料 Ingredients				
玉米 Corn	51.15	50.65	57.35	56.94
油脂 Oil[1)]	5.00	5.00	5.00	5.00
豆粕 Soybean meal	35.36	35.46	29.70	31.00
鱼粉 Fish meal	3.00	3.00	3.00	3.00
玉米蛋白粉 Corn protein meal			0.90	
食盐 NaCl	0.35	0.35	0.35	0.35
石粉 Limestone	1.26	1.26	1.19	1.18
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.55	1.55	1.26	1.26
50%氯化胆碱 50% choline chloride	0.26	0.26	0.20	0.20
赖氨酸 Lys	0.03	0.03		0.01
蛋氨酸 Met	0.14	0.14	0.05	0.06
沸石粉 Zeolite powder	0.90	1.30		
预混料 Premix[2)]	1.00	1.00	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels[3)]				
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.56	12.56	12.98	12.98
粗蛋白质 CP	21.50	21.50	20.01	20.01
钙 Ca	1.01	1.01	0.90	0.90
总磷 TP	0.68	0.68	0.62	0.62

有效磷 AP	0.45	0.45	0.40	0.40
赖氨酸 Lys	1.15	1.56	1.02	1.05
蛋氨酸 Met	0.50	0.50	0.40	0.41

1)植物油组饲粮的油脂分别为亚麻油、玉米油和芝麻油。Oils in diets of vegetable oil groups were linseed oil, corn oil and sesame oil, respectively.

2)预混料为每千克饲粮提供 Premix provide the following per kg of diets: VA 0.45 mg，VD_3 0.005 mg，VE 10.00 mg，VK 0.50 mg，VB_1 1.80 mg，VB_2 3.60 mg，VB_6 3.50 mg，VB_{12} 0.002 5 mg，烟酸 niacin 35.00 mg，叶酸 folic acid 0.55 mg，生物素 biotin 0.20 mg，泛酸 pantothenic 10.00 mg，Zn（$ZnSO_4•7H_2O$）40.00 mg，Mn（$MnSO_4•5H_2O$）60.00 mg，Fe（$FeSO_4•7H_2O$）80.00 mg，Cu （$CuSO_4•5H_2O$） 10.00 mg，I （KI） 0.35 mg，Se （$Na_2SeO_3•5H_2O$） 0.15 mg。表 2 同 The same as Table 2。

3)营养水平根据 NRC(1994)肉鸡的营养需要计算得来。表 2 同。Nutrient levels were calculated in accordance with broilers nutrition needs of NRC (1994). The same as Table 2.

表 2　混合油脂组饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 2　Composition and nutrient levels of diets of oil combination groups (air-dry basis)　　%

项目 Items	1～3 周龄 1 to 3 weeks of age		4～6 周龄 4 to 6 weeks of age	
	植物油混合组 Mixed vegetable oil group	猪油混合组 Mixed lard oil group	植物油混合组 Mixed vegetable oil group	猪油混合组 Mixed lard oil group
原料 Ingredients				
玉米 Corn	51.15	50.92	57.35	57.14
油脂 Oil1)	5.00	5.00	5.00	5.00
豆粕 Soybean meal	35.36	35.41	29.70	30.30
鱼粉 Fish meal	3.00	3.00	3.00	3.00
玉米蛋白粉 Corn protein meal			0.90	0.50
食盐 NaCl	0.35	0.35	0.35	0.35
石粉 Limestone	1.26	1.26	1.19	1.20
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.55	1.55	1.26	1.26
50%氯化胆碱 50% choline chloride	0.26	0.26	0.20	0.20
赖氨酸 Lys	0.03	0.03		
蛋氨酸 Met	0.14	0.14	0.05	0.05
沸石粉 Zeolite powder	0.90	1.08		

预混料 Premix2)	1.00	1.00	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels3)				
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.56	12.56	12.98	12.98
粗蛋白质 CP	21.50	21.50	20.01	20.01
钙 Ca	1.01	1.01	0.90	0.91
总磷 TP	0.68	0.68	0.62	0.62
有效磷 AP	0.45	0.45	0.40	0.40
赖氨酸 Lys	1.15	1.15	1.02	1.03
蛋氨酸 Met	0.50	0.50	0.40	0.40

1)植物油混合组饲粮的油脂分别为 2.50%玉米油+2.50%亚麻油、2.50%亚麻油+2.50%芝麻油；猪油混合组饲粮的油脂分别为2.50%芝麻油+2.50%猪油、2.50%玉米油+2.50%猪油。Oils in diets of mixed vegetable oil groups were 2.50% corn oil and 2.50% linseed oil, 2.50% linseed oil and 2.50% sesame oil, respectively；oils in diets of mixed lard oil groups were 2.50% sesame oil and 2.50% lard oil, 2.50% corn oil and 2.50% lard oil, respectively.

1.2 样品采集

分别于 21、42 日龄时，从每组各重复随机挑选 1 只肉鸡屠宰，在无菌条件下取肝脏、胸肌和腹脂。所取样品均用焦炭酸二乙酯(DEPC)水清洗后，放入液氮速冻，−80 ℃保存。

1.3 总 RNA 提取和反转录

组织样品总 RNA 的提取参照 TaKaRa 的 Trizol 试剂盒使用说明书（取 50~10 mg 的组织）。微量分光光度计（NanoDrop 2 000 UV spectrophotometer，Thermo Scientific，德国）分析提取的 RNA 浓度和纯度；琼脂糖凝胶电泳、凝胶成像分析系统（AlphaImager）上照相分析所提取 RNA 的完整性。反转录反应参照试剂盒使用说明书进行操作（PrimeScript® RT Reagent Kit with gDNA Eraser，TaKaRa，大连），该反转录试剂盒可以去除提取 RNA 中的残余基因组 DNA。反应液（总 RNA 2.0 μg）置于冰上进行操作，反应体系为 20 μL。瞬时离心混匀后将反应液放到 PCR 仪器中，37 ℃反应 15 min，85 ℃反应 5 s，−20 ℃保存备用。

1.4 引物设计

根据红色原鸡的 *GAPDH* 基因序列（GenBank 登录号：NM_204305.1），用 Oligo 6.0 软件设计荧光定量 PCR 所用的检测引物，并由上海生物工程技术服务有限公司合成。PCR 扩增片段长度为 98 bp。荧光定量 PCR 引物见表 3。

表 3　荧光定量 PCR 引物

Table 3　The primers of fluorescent quantitative PCR

基因 Gene	引物和探针序列 Sequences of primer and probe (5′-3′)	产物长度 Product size/bp
甘油醛-3-磷酸脱氢酶 *GAPDH*	F:TTGTCAGCAATGCATCGTGC R:TGATGGCATGGACAGTGGTC P:CCACCAACTGCCTGGCACCCTT	98

F:上游引物 forward primer；R:下游引物 reverse primer；P:探针 probe。

1.5 荧光定量 PCR 反应条件

参照张雯雯等[16]文献，运用探针法荧光定量 PCR 进行基因的定量表达分析：反应体系为 25.0 μL，包括 1.0 μL cDNA（0.1 μL 总 RNA）、0.5 μL 上游引物（12.5 μmol/L）、0.5 μL 下游引物（12.5 μmol/L）、2.5 μL TaqMan™ 探针、0.5 μL Rox II、3.5 μL 镁离子（Mg^{2+}，25 mmol/L）、12.5 μL 2×Mix（包含 1.5 mmol/L Mg^{2+}）、4.0 μL 超纯水；荧光定量 PCR 反应条件为 95 ℃预变性 2 min；40 个循环的 95 ℃变性 15 s；60 ℃退火 1 min。每个样品设置 3 个重复。纯化的 PCR 产物采用微量分光光度计（NanoDrop 2000 UV spectrophotometer）测定浓度后，进行梯度稀释（10^4、10^5、10^6、10^7、10^8、10^9 和 10^{10}），用于建立每板的标准曲线。每板均设阴性对照。参照 Bustin[17]报道方法，本研究采用微量定量仪测定 RNA 的浓度，反应中添加等量的 RNA 和 cDNA 进行每个样品的均一化处理。

1.6　数据统计和分析

首先，把每个样本的 *GAPDH* 拷贝数转换成相对表达量。*GAPDH* 基因的相对表达

量＝样本拷贝数/42 日龄平均拷贝数最低组（5.00%芝麻油组在腹脂组织的表达值）平均值。试验数据用 SAS 8.1 统计软件中的 ANOVA(GLM)过程进行单变量两因素方差分析方法检测油脂类型与组织、油脂类型与日龄、油脂组合与日龄对肉鸡 *GAPDH* 基因的相对表达量的效应。以 P<0.05 为差异显著，P<0.01 为差异极显著。

2　结果与分析

2.1　单一油脂对 42 日龄肉鸡不同组织中 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响

由表 4 可知，42 日龄时，组织以及油脂类型与组织的交互作用显著影响了肉鸡不同组织中 *GAPDH* 基因的相对表达量（P<0.05），油脂类型对肉鸡 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响不显著（P>0.05）。肉鸡不同组织中 *GAPDH* 基因的相对表达量表现为胸肌>肝脏>腹脂。在不同单一油脂组中，胸肌 *GAPDH* 基因的相对表达量均显著高于肝脏和腹脂（P<0.05），是肝脏的 37.50～89.50 倍，是腹脂的 129.54～190.64 倍，而 *GAPDH* 基因的相对表达量在肝脏和腹脂之间差异不显著（P>0.05）。在胸肌中，玉米油组 *GAPDH* 基因的相对表达量显著高于猪油组（P<0.05），而在肝脏和腹脂中，不同油脂类型组中 *GAPDH* 基因的相对表达量均无显著差异（P>0.05）。以上结果表明，肉鸡 *GAPDH* 基因的相对表达量具有明显的时空表达特性，受肉鸡不同组织的显著影响。

表 4　单一油脂对 42 日龄肉鸡不同组织中 *GAPDH* 基因的相对表达量影响

Table 4　Effects of single oil on the relative expression level of *GAPDH* gene in different tissues of 42-day-old broilers

项目 Items		腹脂 Abdominal fat	肝脏 Liver	胸肌 Pectoralis
油脂类型 Oil type	亚麻油 Linseed oil	1.01^{b}	3.68^{b}	137.99^{ac}
	玉米油 Corn oil	1.46^{b}	3.11^{b}	278.33^{a}
	芝麻油 Sesame oil	0.96^{b}	2.38^{b}	171.32^{ac}

	猪油 Lard oil	1.09^{b}	3.34^{b}	141.20^{c}
集合标准误 Pooled SEM			7.52	
	组织 Tissue	< 0.01		
P 值 *P*-value	油脂类型 Oil type	0.06		
	油脂类型×组织 Oil type×tissue	0.03		

同行数据（不同组织之间）和同列数据（不同油脂类型之间）肩标不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05），肩标相同小写字母表示差异不显著（*P*>0.05）。

Values with different small letter superscripts in the same row (among different tissues) and column (among different oil types) mean significant difference (*P*<0.05), while with the same small letter superscripts mean no significant difference （*P*>0.05).

2.2 单一油脂类型对不同日龄肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响

由表 5 可知，日龄显著影响了肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量（*P*<0.05），油脂类型以及油脂类型与日龄的交互作用对肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响不显著（*P*>0.05）。亚麻油组、玉米油组、芝麻油组和猪油组 21 日龄肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量均显著或极显著高于 42 日龄（*P*<0.05 或 *P*<0.01），是 42 日龄肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量的 2.46～4.15 倍。但 21 和 42 日龄肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量在不同油脂类型之间均无显著差异（*P*>0.05）。以上结果表明，肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量受肉鸡日龄的显著影响，油脂类型对 *GAPDH* 基因表达的效应具有组织特异性。

表 5 单一油脂对不同日龄肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响

Table 5 Effects of single oil on the relative expression level of *GAPDH* gene in liver of broilers at different days of age

项目	21 日龄	42 日龄

Items		21-day-old	42-day-old
油脂类型 Oil type	亚麻油 Linseed oil	9.07	3.68*
	玉米油 Corn oil	12.92	3.11**
	芝麻油 Sesame oil	8.77	2.38**
	猪油 Lard oil	11.27	3.34**
集合标准误 Pooled SEM		0.38	
P 值 *P*-value	日龄 Days of age	< 0.01	
	油脂类型 Oil type	0.12	
	油脂类型×日龄 Oil type×days of age	0.18	

同行数据肩标*表示差异显著（$P<0.05$），肩标**表示差异极显著（$P<0.01$）。同列数据肩标无字母表示差异不显著（$P>0.05$）。下表同。

In the same row, values with * superscripts mean significant difference ($P<0.05$), with ** superscripts mean extremely significant difference ($P<0.01$). In the same column, values with no letter superscripts mean no significant difference （$P>0.05$）. The same as below.

2.3 混合油脂对不同日龄肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响

由表 6 和表 7 可知，油脂组合以及日龄与油脂组合的交互作用对肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量影响不显著（$P>0.05$），但日龄仍显著影响了肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量（$P<0.05$）。与单一油脂一样，21 日龄肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量均显著或极显著高于 42 日龄（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），是肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量的 2.46～3.57 倍。

表 6 亚麻油混合油脂对肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响

Table 6 Effects of mixed linseed oils on the relative expression level of *GAPDH* gene in liver of broilers

项目 Items		21 日龄 21-day-old	42 日龄 42-day-old
油脂类型 Oil type	2.5%亚麻油＋2.5%玉米油 2.5% linseed oil＋2.5% corn oil	12.39	4.39*
	2.5%亚麻油＋2.5%芝麻油 2.5% linseed oil＋2.5% sesame oil	15.16	4.60**
集合标准误 Pooled SEM		0.67	
P 值 *P*-value	日龄 Days of age	< 0.01	
	油脂组合 Oil combination	0.09	
	日龄×油脂组合 Days of age×oil combination	0.27	

表 7 猪油混合油脂对肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响

Table 7 Effects of mixed lard oils on the relative expression level of *GAPDH* gene in liver of broilers

项目 Items		21 日龄 21-day-old	42 日龄 42-day-old
油脂类型 Oil type	2.5%猪油＋2.5%玉米油 2.5% lard oil＋2.5% corn oil	10.20	2.86**
	2.5%猪油＋2.5%芝麻油 2.5% lard oil＋2.5% sesame oil	10.14	3.80**
集合标准误 Pooled SEM		0.30	
P 值 *P*-value	日龄 Days of age	< 0.01	
	油脂组合 Oil combination	0.57	
	日龄×油脂组合 Days of age×oil combination	0.59	

3 讨 论

本研究发现，肉鸡 *GAPDH* 基因的相对表达量在不同组织间有显著的差异，胸肌是其优势表达部位。在肉鸡肝脏中，*GAPDH* 基因的相对表达量也随日龄呈现显著变化，表明肉鸡 *GAPDH* 基因具有明显的时空表达特性。Barber 等[18]研究表明，人 *GAPDH* 基因在组织间的表达也呈现显著差异，在骨骼肌中的相对表达量最高，而在乳腺中的相对表达量最低，两者相差 15 倍。

Lowe 等[19]研究报道，老龄(37 月龄)大鼠的 *GAPDH* 基因和蛋白质水平在骨骼肌的快肌中均显著低于幼龄(9 月龄)大鼠，而在慢肌之间则无显著差异，显示快肌的糖酵解能力随着年龄的增长而下降。Slagboom 等[20]研究发现，36 月龄雌性大鼠脾脏 *GAPDH* 基因的相对表达量显著高于 24 月龄，而在肝脏和脑部 *GAPDH* 基因的相对表达量没有出现伴随年龄的明显变化。Mozdziak 等[21]研究发现，7 日龄时鸡胸肌中 *GAPDH* 基因的相对表达量显著高于其他不足 7 日龄的小鸡。本试验中 21 日龄肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量显著或极显著高于 42 日龄，显示肉鸡肝脏的糖酵解能力随着肉鸡日龄的增长而下降。日龄对动物 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响因物种、组织或肌肉类型的不同而异。

Hanke 等[22]研究发现，在野兔骨骼肌细胞培养过程中，低浓度的葡萄糖可以直接抑制 *GAPDH* 启动子的活性，从而降低其转录水平和酶活性。Mozdziak 等[21]报道，3 日龄肉鸡胸肌 *GAPDH* 基因的相对表达量以饲粮饲喂组显著高于禁饲组，表明营养状态可以改变 *GAPDH* 基因的转录水平。而本研究发现 5%的玉米油上调了胸肌中 *GAPDH* 基因的相对表达量，而油脂类型和油脂组合对 42 日龄肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量无显著影响，显示油脂以机体组织特异性和种类特异性的方式影响 *GAPDH* 的转录水平。

近几年来，越来越多的研究者发现 *GAPDH* 在作为内参基因时表现出不稳定的现象[23-24]，其表达量在转录或转录后受到其他因子调节，基因水平和蛋白质水平会随着不同刺激而变化[20]。因此在分子生物学研究中应谨慎选择 *GAPDH* 基因作为内参基因。

4 结　论

① 油脂类型对肉鸡 *GAPDH* 基因的相对表达量的影响呈现组织间的差异，玉米油可提高胸肌 *GAPDH* 基因的相对表达量。

② 42 日龄肉鸡胸肌 *GAPDH* 基因的相对表达量显著高于肝脏和腹脂。

③ 21 日龄肉鸡肝脏中 *GAPDH* 基因的相对表达量显著或极显著高于 42 日龄。

致谢：感谢河南农业大学牧医工程学院王志祥教授对该文稿所提出的宝贵意见。

参考文献：

[1] YAN B X,ZHAO R,WANG J P,et al.Effect of different dietary oil sources on the growth performance,blood characteristics,fatty acid profiles,and expression of lipogenic genes in the liver of broiler chickens[J].Czech Journal of Animal Science,2015,60(11):487–497.

[2] KUBO T,NAKAJIMA H,NAKATSUJI M,et al.Active site cysteine-null glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) rescues nitric oxide-induced cell death[J].Nitric Oxide,2016,53:13–21.

[3] TANG Z J,YUAN S Q,HU Y M,et al.Over-expression of GAPDH in human colorectal carcinoma as a preferred target of 3-bromopyruvate propyl ester[J].Journal of Bioenergetics and Biomembranes,2012,44(1):117–125.

[4] REIS M,ALVES C N,LAMEIRA J,et al.The catalytic mechanism of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase from Trypanosoma cruzi elucidated via the QM/MM approach[J].Physical Chemistry Chemical Physics,2013,15(11):3772–3785.

[5] GLASER P E,HAN X L,GROSS R W.Tubulin is the endogenous inhibitor of the glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase isoform that catalyzes membrane fusion:implications for the coordinated regulation of glycolysis and membrane fusion[J].Proceedings of the National Academy of Sciences,2002,99(22):14104–14109.

[6] COLELL A,RICCI J E,TAIT S,et al.GAPDH and autophagy preserve survival after apoptotic cytochrome c release in the absence of caspase activation[J].Cell,2007,129(5):983–997.

[7] SINGH R,GREEN M R.Sequence-specific binding of transfer RNA by glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase[J].Science,1993,259(5093):365–368.

[8] BAUMGARNER B L,RILEY C P,SEPULVEDA M S,et al.Increased expression of GAPDH protein is not indicative of nitrosative stress or apoptosis in liver of starved rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Fish Physiology and Biochemistry,2012,38(2):319–327.

[9] ENGEL M,SEIFERT M,THEISINGER B,et al.Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and Nm23-H1/nucleoside diphosphate kinase A.Two old enzymes combine for the novel Nm23 protein phosphotransferase function[J].Journal of Biological Chemistry,1998,273(32):20058–20065.

[10] PATHAK N,RAI A K,KUMARI R,et al.Value addition in sesame:a perspective on bioactive components for enhancing utility and profitability[J].Pharmacognosy Reviews,2014,8(16):147–155.

[11] 卢建,王克华,曲亮,等.饲粮中不同水平芝麻油对苏禽青壳蛋鸡产蛋性能、蛋品质、血清脂质指标和蛋黄胆固醇含量的影响[J].动物营养学报,2013,25(10):2474–2480.

[12] LEE J Y,KANG S K,HEO Y J,et al.Influence of flaxseed oil on fecal microbiota,egg quality and fatty acid composition of egg yolks in laying hens[J].Current Microbiology,2016,72(3):259–266.

[13] BOURRE J M.Effect of increasing the ω-3 fatty acid in the diets of animals on the animal products consumed by humans[J].Médecine/Sciences,2005,21(8/9):773–779.

[14] 倪红玉,鲁菲,温超,等.饲粮不同油脂来源对肉鸡脂类代谢及相关基因表达的影响[J].动物营养学报,2011,23(10):1677–1683.

[15] 岳颖,刘国华,郑爱娟,等.生长动物脂肪代谢关键酶基因表达调控[J].动物营养学报,2012,24(2):232–238.

[16] 张雯雯,鲁卫卫,王婷,等.油脂类型和水平对肉鸡组织18S rRNA表达的影响[J].动物营养学报,2014,26(12):3814–3820.

[17] BUSTIN S.Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR):trends and problems[J].Journal of Molecular Endocrinology,2002,29(1):23–39.

[18] BARBER R D,HARMER D W,COLEMAN R A,et al.GAPDH as a housekeeping gene:analysis of GAPDH mRNA expression in a panel of 72 human tissues[J].Physiological Genomics,2005,21(3):389–395.

[19] LOWE D A,DEGENS H,CHEN K D,et al.Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase varies with age in glycolytic muscles of rats[J].The Journals of Gerontology Series A：Biological Sciences and Medical Sciences,2000,55(3):B160–B164.

[20] SLAGBOOM P E,DE LEEUW W J F,VIJG J.Messenger RNA levels and methlation patterns of GAPDH and β-actin genes in rat liver,spleen and brain in relation to aging[J].Mechanisms of Ageing and Development,1990,53(3):243–257.

[21] MOZDZIAK P E,DIBNER J J,MCCOY D W.Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase expression varies with age and nutrition status[J].Nutrition,2003,19(5):438–440.

[22] HANKE N,MEISSNER J D,SCHEIBE R J,et al.Metabolic transformation of rabbit skeletal muscle cells in primary culture in response to low glucose[J].Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research,2008,1783(5):813–825.

[23] TONG Z G,GAO Z H,WANG F,et al.Selection of reliable reference genes for gene expression studies in peach using real-time PCR[J].BMC Molecular Biology,2009,10:71.

[24] MOE T K,ZILIANG J,BARATHI A,et al.Differential expression of

glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH),β actin and hypoxanthine phosphoribosyltransferase (HPRT) in postnatal rabbit sclera[J].Current Eye Research,2001,23(1):44–50.

Effects of Oil Types on Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase Gene Relative Expression Level in Different Tissues of Broilers

TAO Yafei CHEN Qing XU Yuanyuan SHI Xiuwen CHEN Wen HUANG Yanqun*

（*Henan Agricultural University National Germplasm Resoueces Platform for Animals, Feed Nutrition Engineering Laboratory of Henan Province, Henan Agricultural University, Zhengzhou* 450002, *China*）

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of oil types on glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*) gene relative expression level in different tissues of broilers. A total of 240 one-day-old female Cobb broilers were selected and randomly assigned to 8 groups (four single oil groups were fed diets added with 5.00% linseed oil, corn oil, sesame oil and lard oil, respectively; four oil combination groups were fed diets added with 2.50% lard oil+2.50% corn oil, 2.50% lard oil+2.50% sesame oil, 2.50% linseed oil+2.50% corn oil and 2.50% linseed oil+2.50% sesame oil, respectively) with 6 replicates per group and 5 broilers per replicate. The experiment lasted for 42 days. The results showed as follows: 1) the relative expression level of *GAPDH* gene in broiler tissues was significantly affected by tissues and the interaction between oil types and tissues (P<0.05), however, the effects of oil types were not significant (P>0.05). The relative expression level in pectorals of *GAPDH* gene of 42-day-old broilers was significantly higher than that in liver and abdominal fat (P<0.05), the relative expression level of *GAPDH* gene in liver was 37.50 to 89.50 and 129.54 to 190.64 times than that in liver and abdominal fat, however, the relative expression level of *GAPDH* gene between liver and abdominal fat was not significant (P>0.05). The relative expression level of *GAPDH* gene in corn oil group was significantly higher than that in sesame oil group in pectorals (P<0.05). 2) The relative expression level of *GAPDH* gene in liver of 21-day-old broilers was significantly higher than that of 42-day-old broilers (P<0.05 or P<0.01). 3) The relative expression level of *GAPDH* gene in liver of broilers was significantly affected by days of age (P<0.05), however, the effects of oil combination and the interaction between oil combination and days of age were not significant (P>0.05). In conclusion, the effect of oil types on the relative expression level of *GAPDH* gene in broilers shows difference among different tissues, corn oil can improve the relative expression level of *GAPDH* gene in pectorals. The relative expression level in pectorals of *GAPDH* gene of 42-day-old broilers is significantly higher than that in liver and abdominal fat, and the relative expression level of *GAPDH* gene in liver of 21-day-old broilers is significantly higher than that of 42-day-old broilers.

Key words: broilers; oil; GAPDH; gene expression

*Corresponding author, associate professor, E-mail: hyanqun@aliyun.com (责任编辑　武海龙)